



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*  
en conejos mascotas**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

**AUTOR**

Jonathan Javier BARRERA ROZAS

**ASESOR**

Mg. Miryam Jeanette QUEVEDO URDAY

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Barrera, J. Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en conejos mascotas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2019.

---

## METADATOS COMPLEMENTARIOS

**Código Orcid del autor:**

0000-0001-9405-6432 JONATHAN BARRERA

**Código Orcid del asesor:**

0000-0003-2852-6242 MIRYAM QUEVEDO

**DNI del autor:**

71337566

**Grupo de investigación:**

BIOTECNOLOGIA APLICADA A LA CONSERVACIÓN, SANIDAD Y PRODUCCIÓN  
ANIMAL

**Institución que financia parcial o totalmente la investigación**

FONDO DE TESIS DEL VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNMSM

**Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación**

CONSULTORIO DE ANIMALES SILVESTRES Y EXÓTICOS-FACULTAD DE MEDICINA  
VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS- SAN BORJA,  
LIMA-PERÚ

**Año o rango de años que la investigación abarcó**

2018



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el **lunes 08 de julio de 2019**, a las **12:00 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0106-EPMV/FMV-2019, integrado por los siguientes profesores:

MV. Dr. Suárez Aranda Fidel Francisco	Presidente de Jurado
MV. Mg. Quevedo Urday, Miryam Jeanette	Asesor de la Tesis
MV. Casas Astos Eva Consuelo	Miembro del Jurado
MV. Mg. Bezada Quintana, Sandra Gracia	Miembro del Jurado


Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **BARRERA ROZAS, JONATHAN JAVIER** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

### “FRECUENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EN CONEJOS MASCOTAS”,

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesora de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISIETE (17)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:05 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
Suárez Aranda Fidel Francisco, MV. Dr. Prof. Principal, T.C

  
Quevedo Urday, Miryam Jeanette, MV. Mg. Prof. Auxiliar D.E

  
Casas Astos Eva Consuelo, MV. Prof. Asociado, T.C

  
Bezada Quintana, Sandra Gracia, MV. Mg. Prof. Asociada, D.E

## **DEDICATORIA**

**A mis padres y hermanos por apoyarme siempre en la carrera que elegí, a Carla y Winnie por estar siempre que necesité de alguien, y a Canela.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesora, Miryam Quevedo, por permitirme realizar este estudio, a Jesús Lescano, por su tiempo y su gran ayuda durante todo el proceso que duró el estudio y mis compañeros quienes me apoyaron de alguna manera especialmente a Carla por ayudarme tanto durante todo este proceso.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT .....	ii
LISTA DE CUADROS .....	iii
LISTA DE ANEXOS.....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 El Conejo ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> ) .....	3
2.1.1 Fisiología digestiva.....	3
2.2 Historia del <i>Toxoplasma gondii</i> y su ciclo de vida.....	4
2.3 <i>Toxoplasma gondii</i> .....	5
2.3.1 Clasificación Taxonómica .....	5
2.3.2 Estadios de desarrollo .....	6
2.3.3 Hospedero.....	7
2.3.4 Ciclo biológico .....	8
2.3.5 Epidemiología .....	9
2.3.6 Factores de riesgo .....	11
2.3.7 Estudios previos.....	12
2.3.8 Importancia en la salud pública .....	13
2.3.9 Patogenia .....	13
2.3.10 Signos Clínicos y Lesiones.....	14
2.3.11 Respuesta inmune .....	15
2.3.12 Diagnóstico.....	15
2.3.13 Tratamiento .....	17
2.3.14 Prevención y control .....	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
3.1 Lugar y tiempo .....	20
3.2 Animales en estudio .....	20
3.3 Toma de muestra.....	21
3.4 Análisis serológico .....	22



3.5 Procesamiento de muestras .....	22
3.6 Recolección de datos y encuesta epidemiológica.....	24
3.7 Análisis estadístico.....	24
3.8 Consideraciones éticas.....	25
IV. RESULTADOS.....	26
V. DISCUSIÓN .....	29
VI. CONCLUSIONES .....	32
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	33

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra *T. gondii* en conejos mascota (*Oryctolagus cuniculus*) que llegaron como pacientes al Consultorio de Animales Silvestres y Exóticos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en el distrito de San Borja, Lima, Perú; durante el periodo de Enero a Junio del año 2018. Además de establecer si existe una asociación entre los posibles factores de riesgo (sexo, edad, tipo de alimento y presencia de gatos) y la seropositividad de anticuerpos contra *T. gondii*. Se colectaron 89 muestras de sangre de conejos mediante punción de la vena safena lateral o de la vena yugular, de las cuales se obtuvieron los sueros para ser analizadas. Para el diagnóstico se utilizó la técnica de Hemaglutinación Indirecta (HAI), por lo que se prepararon diluciones hasta 1:1024 y se consideraron como positivas aquellos títulos  $\geq$  a 1:64. Asimismo mediante el empleo de 2-Mercaptoetanol se buscó determinar si había infección aguda en aquellos animales seropositivos donde el patrón de aglutinación desaparece en dos títulos como mínimo. La frecuencia de anticuerpos contra *T. gondii* fue de 6.74%. Adicionalmente se entrevistó a los propietarios de los conejos para recopilar información sobre posibles factores asociados a la infección con *T. gondii*, clasificando éstos datos en edad (juvenil:<1año, adulto: 1-5años y geronte: >5años), sexo, tipo de alimento (pellet, fresco o ambos) y presencia de gatos. Se utilizó la prueba estadística de Chi cuadrado para encontrar asociación significativa entre los posibles factores de riesgo y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*. Se observó asociación significativa ( $p<0.05$ ) entre la seropositividad y el tipo de alimento que consume el animal, así como la edad mientras que no se encontró asociación con el sexo, y presencia de gatos.

**PALABRAS CLAVES:** *Toxoplasma gondii*, *Oryctolagus cuniculus*, HAI, frecuencia, factores de riesgo.

## ABSTRACT

The objective of the present study was to determinate the frequency of the anti *T. gondii*'s antibodies in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) which arrived as patients at the Wild and Exotic Animal Clinic of the Veterinary Medicine's Faculty of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos, in the San Borja's district, Lima, Perú, during the period January- June of 2018. Also to establish if there is an association between the possible risk factors (sex, age, type of food and cats presence) and the seropositivity of the anti *T. gondii*'s antibodies. 89 blood samples were collected through the puncture of lateral saphenous vein or the jugular vein, from which the serum were obtained to be analyzed. The Indirect Hemagglutination (IHA) technique was used for diagnosis, for which dilutions up to 1:1024 were prepared, and those  $\geq 1:64$  were considered positives. Also through the use of 2-Mercaptoethanol was sought to determinate if there was acute infection in the seropositive animals which the agglutination falls at least two titles. The frequency of anti *T. gondii*'s antibodies was 6.74%. In addition, rabbit owners were interviewed to collect information about possible factors associated with the *T. gondii*'s infection, classifying these data as age (juvenile: <1 year, adult: 1-5years, elder: >5 years), sex, type of food (pellet, fresh or both) and cats presence. The Chi-square statistical test was used to find a significant association between the possible risk factors and the anti *T. gondii*'s antibodies presence. There was sought a significant association ( $p < 0.05$ ) between the seropositivity and the type of food as well as age, while no association was found with sex, and cats presence.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*, *Oryctolagus cuniculus*, IHA, frequency, risk factors

## LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* y asociación de los factores de riesgo para su presentación en conejos mascota en el departamento de Lima-Perú, durante el año 2018.....27
- Cuadro 2.** Títulos de anticuerpos sin 2-Me y con 2ME de cada animal positivo para identificar la presencia de anticuerpos IgM.....28

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>Anexo 1.</b>	Modelo de encuesta realizada a los propietarios de conejos mascota.....	39
-----------------	---	----

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Vena safena lateral del conejo.....	21
<b>Figura 2.</b>	Punción de la vena yugular.....	22
<b>Figura 3.</b>	Imagen de referencia para resultados positivos y negativos.....	23

## I. INTRODUCCIÓN

Los conejos pertenecen al orden Lagomorpha, quienes se caracterizan por un segundo par de incisivos superiores situados detrás de los incisivos centrales. Originalmente se encontraban clasificados en un suborden de los Rodentia (Varga, 2013) junto con las liebres y los pikas (Fox, 1974; Varga, 2013). El conejo doméstico descende del conejo Europeo, *Oryctolagus cuniculus* y si bien los conejos son asociados con el hombre desde la era romana, fueron realmente domesticados hace unos 200 años aproximadamente (Varga, 2013).

La domesticación del conejo ha dado como resultado una amplia gama de razas con diferentes características que pueden dividirse aproximadamente en dos grupos: razas de lujo y razas de pelo (Varga, 2013). Tradicionalmente, los conejos mascota se mantienen en jaulas en el jardín, cobertizo o garaje lo que conduce a que se produzcan agresiones y problemas de conducta (Richardson, 2000). Sin embargo en la actualidad se está tomando conciencia de la naturaleza social del conejo y la necesidad de ejercicio y ha habido un aumento constante en el número de conejos mascota y el estado del conejo ha pasado de ser la mascota del niño a un miembro de la familia. Los conejos mascota pueden unirse estrechamente a sus dueños y entretenerse con ellos. En cuanto a su convivencia con otras especies domésticas, los perros y los gatos pueden aprender a tolerar la compañía de los conejos y éstos pueden también aprender con el tiempo a no ver a los perros y gatos como depredadores (Varga, 2013).

*Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular con la capacidad de invadir y multiplicarse en cualquier célula nucleada. Los hospedadores definitivos son los gatos domésticos y otros felinos mientras que los hospedadores intermediarios son todos los animales de sangre caliente incluyendo al hombre (Cordero del Campillo y Rojo, 2001). Como en todos los mamíferos los conejos también pueden infectarse de *Toxoplasma gondii*, aunque la infección es usualmente subclínica y una vez que se establece la respuesta inmunitaria del huésped, el organismo puede encontrarse como quistes en distintos tejidos donde pueden permanecer por años (Owen, 1992). Mientras que la forma proliferativa o aguda es muchas veces mortal, ya que la mayor parte de los conejos infectados mueren entre el segundo y octavo día post infección (Cordero de Campillo y Rojo, 2001). El diagnóstico de la toxoplasmosis en conejos se puede hacer por una combinación de examen histológico de las lesiones, identificación de organismos por microscopía óptica y electrónica, aislamiento de los organismos, y métodos serológicos (Maning *et al.*, 1994).

Debido a la creciente tendencia en la tenencia de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) como mascota, se hace necesario conocer acerca de enfermedades que puedan padecer estos animales. La toxoplasmosis es una enfermedad que afecta gravemente al conejo llevándolo incluso a la muerte. Debido a esto se hace necesario conocer la frecuencia de anticuerpos anti-*T.gondii* a fin de ayudar a los veterinarios clínicos, brindándoles información relevante a tomar en cuenta dentro del diagnóstico y programas de prevención.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 El Conejo (*Oryctolagus cuniculus*)

Los conejos domésticos descienden del conejo europeo, *Oryctolagus cuniculus*. La forma ancestral probablemente evolucionó en la Península Ibérica y se diseminó en otras partes del Mediterráneo (Fox, 1974).

Mientras que los conejos han sido asociados al hombre desde tiempos romanos, fueron realmente domesticados por alrededor de 200 años. Los romanos llevaron muchos animales de consumo con ellos, como los faisanes y codornices, y se cree que no solo introdujeron conejos, sino que también los mantenían en jaulas, empezando así el proceso de domesticación. El conejo mascota moderno aún mantiene las características de su contraparte salvaje a pesar de los cambios de tamaño, color, textura de pelaje y temperamento. (Nowak, 1999).

Los conejos pertenecen al orden Lagomorpha, el cual se caracteriza por la presencia de un segundo y pequeño par de incisivos superiores situados detrás de los incisivos centrales. Los lagomorfos fueron considerados anteriormente un suborden de los Rodentia, el cual está dividido en Sciuromorpha (roedores como la ardilla), Myomorpha (roedores como el ratón) e Hystricomorpha (roedores como puercoespines) que incluye a los cuyes y chinchillas. La opinión actual sugiere que los roedores y lagomorfos no tienen similitudes fundamentales y en base a características estructurales y datos serológicos, los lagomorfos muestran una mayor afinidad con los artiodáctilos (mamíferos ungulados) (Nowak, 1999).

#### 2.1.1 Fisiología digestiva

El tracto alimenticio del conejo está adaptado para la digestión de grandes cantidades de fibra. Los conejos han desarrollado una estrategia de alta ingesta de alimentos y un tránsito veloz de comida a través de los intestinos para suplir sus requerimientos nutricionales de una dieta diluida en nutrientes. Los conejos son fermentadores del intestino posterior y dependen de la fermentación microbiana de los alimentos dentro del ciego para proporcionar los nutrientes. En el estómago y el intestino delgado, la digestión y absorción de nutrientes es similar a la de los mamíferos monogástricos. Los productos finales de los procesos digestivos se separan en el

colon en material no digerible y sustancias que pueden ser metabolizadas por microorganismos cecales. La separación de la ingesta depende del tamaño de partícula. El colon proximal del conejo está adaptado para la separación de partículas grandes de fibra indigerible de partículas más pequeñas que pueden degradarse y usarse como sustrato para la fermentación bacteriana en el ciego. Los dos componentes se envían simultáneamente en direcciones opuestas. La fibra indigerible pasa por el colon para eliminarse rápidamente como pellets fecales duros y secos. Las partículas y fluidos más pequeños pasan al ciego, donde la fermentación bacteriana libera ácidos grasos volátiles y sintetiza proteínas y vitaminas. Los pellets de contenido cecal blando (cecotrofos) se expulsan periódicamente del ano y se vuelven a ingerir como fuente de nutrientes. Esta estrategia digestiva utiliza la fermentación bacteriana para sintetizar nutrientes y evita la necesidad de almacenar grandes volúmenes de alimentos en el tracto digestivo. La vegetación puede ser digerida eficientemente bajo tierra sin la necesidad de pasar largos períodos de pastoreo y exposición a los depredadores (Varga, 2013).

## 2.2 Historia del *Toxoplasma gondii* y su ciclo de vida

*T. gondii* fue descubierto por Manceaux y Nicolle en una especie de roedor similar al hámster llamado gundi (*Ctenodactylus gundi*), el cual era usado para una investigación sobre leishmaniasis en el Instituto Pasteur en Tunis en 1908. Este nuevo organismo fue llamado *Toxoplasma gondii* del latín *Toxo* que significa arco, *plasma* que significa vida y *gondii* por el hospedero en el que se encontró (Nicolle y Manceaux, 1909; citado por Dubey, 2009). Splendore descubrió éste mismo parásito en un conejo en Brazil ese mismo año también identificándolo erróneamente como *Leishmania* (Splendore 1908; citado por Dubey, 2009).

El taquizoito, la fase encontrada por Nicolle y Manceaux, también llamada trofozoito o endozoito fue descrita por primera vez en 1958 por Goldman (Goldman *et al.* 1958; citado por Dubey, 2009), mientras que el término bradizoito para la fase quística fue propuesto por Frenkel en 1973 (Frenkel, 1973; citado por Dubey, 2009).

En 1970 se descubrieron ooquistes de *T. gondii* en heces de gato, por lo que se añadió la eliminación de ooquistes a la descripción biológica del quiste (Dubey, 2009). Ese mismo año se reportaron estadios sexuales y asexuales del parásito en intestino de gato (Dubey y Frenkel, 1972; citado por Dubey 2009). Estudios seroepidemiológicos en islas del Pacífico (Wallace, 1969; citado por Dubey 2009), Australia (Munday, 1972; citado por Dubey 2009) y EE.UU (Dubey *et al.*, 1997; citado por Dubey 2009) mostraron la ausencia de *T. gondii* en las islas donde no habían gatos, esto confirmó la importancia del felino en la transmisión del agente.

*T. gondii* fue identificado en el hombre por primera vez en 1913 por Castelloni, cuyo caso se catalogó como el primer caso descrito de toxoplasmosis congénita en el ser humano. En 1939 Wolf *et al.* describieron la infección congénita por *T. gondii* en el humano y luego se encontró en otras especies de animales como ovejas, cabras y roedores (Dubey, 2009) quienes incluso continuaban la infección congénita en al menos 10 generaciones (Beverley, 1959; citado por Dubey, 2009).

Weinman y Chandler sugirieron que la transmisión se podría dar por la ingesta de carne cruda y Jacobs proporcionó evidencia para apoyar esta idea al demostrar la resistencia de *T. gondii* a enzimas proteolíticas derivadas del quiste. Weinman y Chandler descubrieron que la pared del quiste se disolvía por acción de estas enzimas pero que los bradizoitos liberados sobrevivían mucho tiempo después en el hospedero infectado (Dubey, 2009).

En 1948, se desarrolló una prueba serológica llamada prueba del colorante la cual era altamente sensible y específica. Esto permitió una mayor cantidad de estudios epidemiológicos en *T. gondii*, así como demostrar que algunos signos clínicos indicativos de toxoplasmosis también ocurrían en otras enfermedades, por lo que ayudó en el diagnóstico diferencial (Feldman y Miller, 1956; citado por Dubey, 2009).

En 1962 la inmunofluorescencia indirecta fue introducida por Kelen *et al.* (Kelen *et al.*, 1962; citado por Dubey, 2009) y en el año 1965 Fulton desarrolló la prueba de aglutinación directa que luego fue mejorada por Dubey y Desmont en 1987, quienes la llamaron prueba de aglutinación modificada (Modified agglutination test-MAT) cuya sensibilidad y especificidad fue validada comparando los datos serológicos que se poseían y el aislamiento del parásito de cerdos infectados (Dubey, 1997; citado por Dubey, 2009).

En 1942, Sabin y Warren reportaron la efectividad de las sulfonamidas contra la toxoplasmosis en roedores y en 1953, Eyles y Coleman descubrieron el efecto sinérgico de combinar sulfonamidas y pirimetamina la cual se volvió la terapia estándar en humanos (Remington *et al.*, 2001).

## 2.3 *Toxoplasma gondii*

### 2.3.1 Clasificación Taxonómica

Reino:	Protozoa
Phylum:	Apicomplexa
Clase:	Sporozoea
Sub clase:	Coccidia
Orden:	Eucoccidiida
Suborden:	Eimeriina
Familia:	Sarcocystidae
Género:	<i>Toxoplasma</i>
Especie:	<i>Toxoplasma gondii</i>
	(Smith, 1991)

### 2.3.2 Estadios de desarrollo

*T. gondii* posee tres estadios de desarrollo: taquizoito, bradizoito y ooquiste. Los dos primeros se encuentran en la mayoría de mamíferos y aves, mientras que el gato posee los tres estadios (Dubey, 2004).

#### *Taquizoíto o trofozoíto*

Este estadio se encuentra tanto en el hospedero intermediario como en el definitivo. En el hospedero intermediario los taquizoitos pueden encontrarse en células de todo el cuerpo y en el hospedero definitivo se encuentran en las células epiteliales no intestinales. Además, es un estadio de multiplicación rápida (Dubey *et al.*, 1998). Posee una forma similar a una media luna con un extremo redondeado y otro en forma afinada, con un tamaño que varía entre 1.5 a 3µm de ancho y 3.5 a 7.5µm de largo (Pizzi, 1997).

Ultraestructuralmente posee diferentes organelas y cuerpos de inclusión como conoides, ribosomas, retículo endoplasmático rugoso y liso, complejo de Golgi, anillos apicales, anillos polares, micronemas, microtúbulos subpeliculares, mitocondrias, roptrias, gránulos densos, gránulos de amilopectina, etc. El núcleo contiene gránulos de cromatina y normalmente se encuentra en la parte central de la célula pero también puede encontrarse en el extremo posterior (Dubey *et al.*, 1998),

El taquizoito puede infectar distintos tipos de células e ingresar por fagocitosis o penetración activa. Una vez dentro de la célula, adquiere una forma ovoide y se forma una vacuola parasitófora que puede tener origen parasitario o desde la propia célula del hospedero y posteriormente envuelve al taquizoito (Dubey *et al.*, 1998).

El taquizoito se ve afectado por factores como el calor o el frío, así como a ciertas drogas, desecación, (Pizzi, 1997) y los jugos gástricos (Dubey, 1998).

#### *Bradizoíto o cistozoíto*

Luego de la fase aguda de la infección por *T. gondii*, el parásito permanece latente en forma de bradizoítos que persisten dentro de los quistes tisulares. La conversión inducida por el estrés de los taquizoitos a bradizoítos es un paso crítico en la patogénesis de la toxoplasmosis, ya que las formas de bradizoito latentes pueden reactivarse cuando hay inmunosupresión y son infecciosas para otros huéspedes (Knoll *et al.*, 2014). Los bradizoitos tienen forma de media luna y miden aproximadamente 7 µm y 2 µm de ancho, su núcleo se encuentra hacia la parte posterior y se agrupan en quistes tisulares los cuales se alojan mayormente en el hígado, musculatura esquelética o cardíaca, ojo y cerebro (Dubey *et al.*, 1998).

Estos quistes tisulares tienen distintos tamaños, los quistes recién formados pueden medir unos 5 µm y contener únicamente dos bradizoitos, mientras que uno que tenga más tiempo en el organismo puede contener cientos de bradizoitos y medir hasta 100 µm de longitud (Dubey *et al.*, 1998). Además pueden resistir parcialmente cambios en la temperatura del medio en el que se encuentran, por lo que pueden mantenerse activos en refrigeración entre 1 a 4°C en carne picada o carcasa por más de 3 semanas, asimismo pueden sobrevivir una semana al congelamiento entre -1 a -8°C (Tenter *et al.*, 2000), 32 semanas entre temperaturas de 3 a 5°C y 3 días en los órganos de individuos muertos a 20°C (Flores, 1991)

Los bradizoitos contienen un mayor número de gránulos de amilopectina y micronemas que los taquizoitos y poseen una resistencia mayor a la tripsina y pepsina. Los quistes tisulares crecen y permanecen intracelulares a medida que los bradizoitos se dividen por endogamia. Los quistes de tejidos jóvenes pueden tener un diámetro de 5  $\mu\text{m}$  con dos bradizoitos en su interior, y los quistes más viejos contienen múltiples organismos. Su pared es delgada y elástica, con un grosor de 0.5  $\mu\text{m}$  (Dubey *et al.*, 1998).

#### *Ooquiste*

Es la forma empleada por *T. gondii* para salir al medio ambiente. Luego de que el gato ingiere cualquiera de los estadios infectivos del parásito (taquizoito, bradizoito y ooquiste) excreta ooquistes e junto con las heces y pueden ser tanto esporulados como no esporulados (Dubey *et al.*, 1998).

El ooquiste esporulado varía su forma pudiendo ser subesférico o elipsoidal y posee un diámetro de aproximadamente 11 x 13  $\mu\text{m}$ . Su pared está dividida en tres láminas: la lámina interna moderadamente electrodensa, la lámina media electrolúcida y la lámina externa electrodensa. El ooquiste posee dos esporoquistes elipsoidales que miden 6 x 8  $\mu\text{m}$ . (Dubey *et al.*, 1998) y cada esporoquiste contiene 4 esporozoitos que miden de 6 a 8  $\mu\text{m}$  de largo por 2  $\mu\text{m}$  de ancho los cuales contienen un núcleo subterminal (Dubey, 2004). La esporulación se da luego de 1 a 5 días (Dubey *et al.*, 1998).

Los ooquistes esporulados pueden resistir temperaturas de hasta 25°C durante 200 días y -10°C durante 106 días (Dubey, 1998). Además son altamente resistentes a las influencias ambientales; esta resistencia a diversos factores estresantes físicos y químicos, incluidos los desinfectantes como los productos a base de UV, ozono y cloro, se atribuye a la pared del ooquiste. Sin embargo los ooquistes se inactivan rápidamente después de la exposición a temperaturas superiores a 60 ° C durante unos minutos (Dumêtre *et al.*, 2013).

El ooquiste no esporulado puede tener una forma de subesférica o esférica y mide 10 x 12  $\mu\text{m}$  de diámetro (Dubey, 1998) y su pared posee dos láminas, no tiene gránulos polares y en su interior se encuentra el esporonte que ocupa la mayor parte del ooquiste (Tenter *et al.*, 2000), no causan infección y la esporulación está sujeta a las condiciones de aireación, humedad y temperatura (Dubey *et al.*, 1998).

### **2.3.3 Hospedero**

#### *Hospedero Definitivo*

El hospedero definitivo del *T. gondii* de manera natural es el felino ya sea doméstico o silvestre (Frenkel *et al.*, 1970 citado por Figueroa *et al.*, 2006). Son los únicos hospederos de la forma sexual y eliminan ooquistes mediante las heces, por lo que son la fuente de infección hacia los hospederos intermediarios (Langoni *et al.*, 2001). El hospedador definitivo se infecta debido a la ingestión de ooquistes esporulados o quistes con bradizoitos contenidos en las células de los huéspedes intermediarios (Quiroz, 1990).

Estudios en diversos países sobre la seropositividad de *T. gondii* en gatos mostraron que alrededor del 64% de éstos son seropositivos. Este estudio también señala que la tasa de infección en aves así como en roedores determina la infección existente en gatos, debido a que comúnmente estos animales son presas de los gatos (Soulsby, 1987).

#### *Hospedero intermediario*

Los hospedadores intermediarios son todos los animales de sangre caliente incluyendo al hombre (Cordero del Campillo y Rojo, 2001); en el caso de los moluscos, éstos pueden servir de hospederos paraténicos y diseminar los ooquistes en el océano (Miller *et al.*, 2008).

Dentro del hospedero intermediario ocurre la fase extraintestinal con el desarrollo de taquizoitos y posteriormente bradizoitos los cuales pueden infectar tanto a los felinos como a otros hospederos intermediarios (el hombre y el perro), ya que no sólo se pueden infectar por el consumo de alimentos de origen vegetal con ooquistes sino también por el consumo de carnes con quistes tisulares (Langoni *et al.*, 2001).

El pasto y el agua de bebida contaminados con ooquistes son la fuente de infección más importante para los hospederos intermediarios, especialmente para ovejas y cabras (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

### **2.3.4 Ciclo biológico**

*Toxoplasma gondii* tiene un ciclo sexual y uno asexual, ambos pueden ocurrir en el hospedero definitivo (gato) y en los hospederos intermediarios solo ocurre el ciclo asexual (Dubey *et al.*, 2009).

#### *Ciclo sexual (enteroepitelial o intestinal)*

Ocurre en el hospedero definitivo y éste puede infectarse mediante la ingesta de quistes tisulares con bradizoitos que se encuentran en el tejido de animales con infección crónica, taquizoitos (presentes en el tejido de animales con toxoplasmosis aguda) o quistes esporulados (mediante el consumo de agua o alimentos que han sido contaminados con heces del gato infectado) (Dubey, 2004). Sin embargo, la ingestión de quistes tisulares con bradizoitos es la manera más habitual de adquirir la infección ya que los taquizoitos no pueden resistir la digestión enzimática (Dubey y Lappin, 2000).

Luego de la ingestión, la pared de los quistes es disuelta por acción de las enzimas proteolíticas del estómago e intestino, por lo que los bradizoitos quedan libres y penetran las células del epitelio intestinal donde se realiza la esquizogonia (Quiroz, 1990). Posteriormente se realiza la gametogonia, y se forman los macrogametos y microgametos (Cordero del Campillo y Rojo, 2001). Los microgametos son masculinos mientras que los macrogametos son femeninos. Los microgametos se separan para formar microgametos biflagelados, y se liberan para viajar hacia la ubicación de los macrogametos para fecundarlo por penetración. Una vez sucedido esto, se desarrolla una pared alrededor del macrogameto para formar un ooquiste diploide no esporulado (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Luego de la infección, el felino puede expulsar entre los días 5 y 10 hasta un millón de ooquistes. Estos esporulan cuando se encuentran en un medio favorable luego de 1 a 5 días (Tenter *et al.*, 2000), donde se forman dos esporoquistes los cuales contienen cuatro esporozoitos cada uno (Cordero del Campillo y Rojo, 2001). Si el gato adquiere la infección tanto por el consumo de taquizoitos como por ooquistes, éste diseminará al medio ambiente una cantidad reducida de ooquistes (Luzón *et al.*, 1997).

#### *Ciclo Asexual (extraintestinal)*

Ocurre en los hospederos intermediarios incluyendo al hombre, luego de la ingesta de los quistes tisulares contenidos en carne sin cocinar o por el consumo de ooquistes presentes en los alimentos (Leguía y Casas, 1999). Éstos ingresan al intestino, donde son degradados y liberan bradizoitos o esporozoitos (Flores, 1991), los cuales una vez dentro de las células y linfonódulos intestinales se dividen rápidamente y producen taquizoitos (Meireles, 2001), y posteriormente éstos entran al torrente circulatorio y/o linfático para propagarse por diferentes tejidos (Rojas, 2003).

Los taquizoitos usan a los macrófagos como medio de transporte para diseminarse por vía hematógena hacia los demás tejidos del cuerpo, (Butcher *et al.*, 2014) donde se localizan intracelularmente y se multiplican rápidamente dando lugar a la formación de pseudoquistes o agrupación de taquizoitos (Cordero del Campillo *et al.*, 2001). Estas formas se acumulan en el interior de las células del hospedador hasta que se rompen liberando los taquizoitos que invaden nuevas células dando lugar a la fase aguda de la enfermedad, pero a los 7-10 días ya se producen anticuerpos específicos y la infección se hace crónica. Es a partir de este momento, que los zoitos se multiplican de forma lenta dando lugar a la formación de quistes con bradizoitos (Cordero del Campillo y Rojo, 2001), también llamados quistezoitos, cistozoito, microquistes tisulares, o pseudoquistes que distienden la célula pudiendo alcanzar entre 10 a 60  $\mu\text{m}$  de tamaño (Rojas, 2003).

Los quistes con bradizoitos luego son ingeridos por el hospedador definitivo mediante el consumo de la carne contaminada con éstos, continuando con el ciclo (Cordero del Campillo y Rojo, 2001). Cuando la presa ingiere el taquizoito y bradizoito la fase extraintestinal se recicla (Rojas, 2003).

### **2.3.5 Epidemiología**

#### *Parásito*

Los ooquistes son eliminados al medio ambiente mediante las heces del felino durante 3 a 21 días post-infección, luego son diseminados al medio ambiente por acción de los vientos, y lluvias hacia pastos naturales y alimento cosechados (Tenter *et al.*, 2000) o mediante otros animales como los insectos y gusanos que cumplen el rol de vectores mecánicos (Dubey *et al.*, 2009). Los ooquistes propagarán la infección al ser ingeridos por los hospederos intermediarios a través de los alimentos o agua contaminada (Dubey *et al.*, 2004) y luego los felinos se infectarán al consumir tejidos infectados con quistes (Cordero del Campillo y Rojo, 2001).

Los ooquistes poseen una mayor capacidad infectante que los taquizoitos y bradizoitos por vía oral, aunque se han hallado bradizoitos luego de tres años de que se produjo la infección debido a la ausencia de reacción inflamatoria por parte de los tejidos (Leguía *et al.* 1987).

### *Hospedero*

La primoinfección está condicionada al comportamiento del felino ya que principalmente ocurre entre el sexto mes y primer año de vida, edad en la que desarrollan actividades de caza y consumo de roedores, aves o carne que contiene quistes tisulares (Flores, 1991). Luego eliminan millones de ooquistes por aproximadamente 15 días provocando una gran extensión del parásito en el medio ambiente (Acha y Szyfres, 2003) y posteriormente adquieren inmunidad convirtiéndose en un portador sano. Sin embargo, aunque se considera que el felino no elimina ooquistes por segunda vez, esto aún puede ocurrir si se expone a cepas distintas luego de seis años de la primoinfección (Dubey, 1995).

En caso de hospederos intermediarios, éstos se infectan al ingerir alimentos o agua contaminados con ooquistes esporulados (Leguía *et al.*, 1998). En el caso de los ovinos y caprinos, la toxoplasmosis congénita es importante debido al riesgo de muerte embrionaria, así como también de aborto y el nacimiento de crías con lesiones oculares o cerebrales con poca supervivencia; esto solo ocurre una vez en la primoinfección durante la preñez, dándose estos casos también en el ser humano (Leguía *et al.*, 1998). El hombre se puede infectar por el consumo de quistes tisulares en carnes infectadas poco cocidas y vegetales crudos mal lavados contaminados con ooquistes esporulados provenientes de heces de gato (Leguía y Casas, 1999).

### *Medio ambiente*

Las distintas tasas de infección animal y humana que se han obtenido en diferentes países se deben a una variedad de factores como las condiciones ambientales, localización geográfica, hábitos culturales, fauna que habita el territorio, así como al grado de desarrollo que posea el país y sus programas sanitarios (Meireles, 2001).

La toxoplasmosis ha sido diagnosticada en distintos tipos de climas donde la prevalencia se ve afectada por el medio ambiente, siendo más alta en zonas de climas cálidos y húmedos y menor en zonas frías y secas (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Los ooquistes tienen una supervivencia máxima de 200 días en temperaturas comprendidas entre -6 y 20°C por lo que regiones de climas templados, tropicales y subtropicales presentan una alta prevalencia (Gilot *et al.*, 2012). Los ooquistes se inactivan rápidamente después de la exposición a temperaturas superiores a 60 ° C durante unos minutos. (Dumètre *et al.*, 2013).



### 2.3.6 Factores de riesgo

#### *Presencia de animales*

Los felinos al ser hospederos definitivos son fundamentales en el ciclo biológico del *T. gondii* ya que diseminan ooquistes al medio ambiente y estos son resistentes a las condiciones medioambientales. Según investigaciones realizadas en infecciones por *T. gondii* se ha determinado que prácticamente no hay en zonas en las que no hay gatos. Sin embargo, los gatos normalmente solo eliminan ooquistes durante 1 semana una sola vez en toda su vida (Cordero del Campillo *et al*, 1999).

Algunos experimentos reportaron que el *T. gondii* se mantiene en niveles altos en roedores silvestres sin la presencia de felinos en la misma área geográfica ya que en roedores puede haber transmisión congénita y al ser consumidos por otros mamíferos carnívoros u omnívoros éstos pueden presentar el riesgo de infectarse (Webster, 1994).

#### *Edad*

La prevalencia del *T. gondii* es mayor con la edad, a medida que la edad de los animales aumenta, el riesgo de exposición al parásito es mayor (García *et al*, 1990). Este fenómeno se debe a que a mayor edad de los animales, tienen más oportunidades de infectarse a lo largo de su vida y por lo tanto presentar un mayor nivel de anticuerpos. Algunos estudios señalan que la prevalencia aumenta con la edad (Acha y Szyfres, 2003).

#### *Sexo*

Según Miller *et al.*, (2002) los mamíferos machos de vida libre, tienen mayor predisposición a infectarse debido a largas distancias que pueden recorrer para establecer su territorio y defenderlo. Sin embargo según otros autores, en diversas especies así como en el ser humano; el género no representa un factor de riesgo para adquirir toxoplasmosis.

#### *Área geográfica de procedencia del animal*

Se ha reportado una seroprevalencia mayor en territorios tropicales o de climas cálidos y húmedos en comparación con territorios que poseen un clima árido o frío (Dubey y Lappin, 2000). Según la altitud, en zonas con una menor altitud sobre el nivel del mar se ha reportado una mayor tasa de prevalencia (Acha y Szyfres, 2003).

Los animales de vida libre tienen una seroprevalencia menor, mientras que los animales que viven o se alimentan cerca a zonas habitadas por personas donde es mayor la presencia de gatos domésticos, la seroprevalencia es mayor (Tenter *et al.*, 2000).

### *Sistema de explotación*

Se ha encontrado una mayor exposición a alimentos contaminados en sistemas intensivos de crianza (Luzón *et al.*, 1997). Una de las principales fuentes de infección del ganado es el alimento almacenado contaminado con ooquistes provenientes de heces de gato.

En sistemas extensivos los principales responsables de diseminar la toxoplasmosis son los felinos silvestres, ya que éstos pueden reemplazar al gato doméstico aquellas circunstancias epizootiológicas donde el gato no tiene participación (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

### *Estacionalidad*

Los ooquistes esporulados se vuelven infecciosos y resistentes al medio ambiente por períodos que dependen de las condiciones climáticas pudiendo mantenerse viables durante al menos 54 meses a 4°C en agua (Yan *et al.*, 2016).

Según una investigación realizada en Nueva Zelanda y Noruega, se detectó una tasa mayor de seroprevalencia de toxoplasmosis en ovinos durante otoño e invierno en comparación al verano. Esto se debe probablemente a la menor longitud de la hierba que crece durante otoño e invierno, por lo que los animales se alimentan de un pasto que está más cercano al suelo, aumentando la exposición al parásito y las posibilidades de infectarse (Luzón *et al.*, 1997).

### *Tipo de alimentación*

Los carnívoros y omnívoros tienen más probabilidades de exponerse al *T. gondii* que los herbívoros en el transcurso del tiempo; esto se debe a que los quistes se forman en el tejido nervioso y muscular, debido a que probablemente que un herbívoro ingiera ooquistes del suelo o agua contaminados es un evento mucho menos común que la ingesta de carne infectada con quistes tisulares presentes en las presas o carroña por parte de un carnívoro u omnívoro (Dubey, 2010). Es más habitual hallar una prevalencia de anticuerpos mayor en carnívoros que omnívoros y herbívoros, siendo éstos últimos los que presentan un menor grado de prevalencia de anticuerpos (Smith y Frenkel, 1995).

### **2.3.7 Estudios previos**

Se han realizado una gran cantidad estudios sobre seroprevalencia de *T. gondii* en diferentes especies animales en distintos países dando resultados concluyentes que dan evidencia serológica de la infección. Con lo que se confirma el carácter cosmopolita que posee la enfermedad en animales domésticos y silvestres así como en el hombre (Soulsby, 1987).

En México se reportó que la seroprevalencia de *T. gondii* en conejos de granja de traspatio puede aumentar de 18.7 a 39.7% asociada a la presencia de gatos en las casas de los propietarios de las granjas. (Figueroa *et al.*, 2006) En un estudio serológico para toxoplasmosis en Chile, se encontró una prevalencia de 8% en conejos silvestres (Stutzin *et al.*, 1989). En

China se encontró una seroprevalencia de *T. gondii* de 4.5% (Meng *et al.*, 2015). En un estudio realizado en el 2016 al noreste de Brasil, se encontró que 6.7% de los conejos fueron positivos a anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* mediante Test de Aglutinación Modificado (MAT) y 9.25% fueron positivos mediante PCR (De Lima *et al.*, 2016).

En Perú, se reportó una frecuencia de anticuerpos contra *T. gondii* de  $11.2 \pm 4.6\%$  (20/178) en gatos domésticos mediante la técnica de HAI y  $17.9 \pm 5.6\%$  (32/178) mediante la técnica de IFI (Cerro *et al.*, 2009).

### 2.3.8 Importancia en la salud pública

*T. gondii* puede adquirirse por la ingesta de carne mal cocida que contenga quistes de *T. gondii*, así como mariscos, agua o comida contaminada como frutas y vegetales (McLeod *et al.*, 2014). También se han reportados brotes en casos de trasplantes de órganos y transfusiones de sangre así como en accidentes de laboratorio (Dubey y Lappin, 2000).

Aproximadamente 500 millones de personas en el mundo poseen anticuerpos contra *T. gondii*, siendo la prevalencia alrededor del 100% en áreas tropicales, cálidas o húmedas mientras que en territorios de climas áridos y fríos es menor (Dubey y Lappin, 2000). En casos de pacientes con VIH la toxoplasmosis puede involucrar múltiples órganos, y se presentan con mayor frecuencia signos que incluyen hemiparesia, estado mental alterado, convulsiones, alteraciones de los nervios craneales, anomalías del habla, signos cerebelosos y manifestaciones conductuales o psicomotoras que incluyen psicosis, demencia y ansiedad. Además es importante en mujeres embarazadas debido a que la toxoplasmosis puede transmitirse al feto sin que la mujer embarazada se dé cuenta de que está infectada de forma aguda. (McLeod *et al.*, 2014).

### 2.3.9 Patogenia

Una vez el quiste tisular u ooquiste es ingerido, las enzimas digestivas rompen su cubierta quística y liberan los esporozoitos en el intestino, ingresando mediante fagocitosis o penetración activa en distintos tipos de células de la mucosa y submucosa intestinal, esta acción se da por invasión activa o por fagocitosis (Leguía y Casas 1999). Dentro de estos reservorios celulares de infección, los taquizoitos son secuestrados por una vacuola parasitofórica a partir de la cual recogen nutrientes y se replican hasta que salen. Esto sucede debido a que el parásito manipula activamente la biología de la célula huésped, en particular las redes de señalización intracelular del sistema inmunológico además de conferir resistencia a los inductores de apoptosis en macrófagos infectados (Butcher *et al.*, 2014). Una vez dentro se forman pseudoquistes mediante la multiplicación de los taquizoitos hasta que la célula se desintegra debido al gran número de estos y quedan libres, por lo que invaden otras células y continúan el ciclo (Dubey *et al.*, 1998; Dubey, 2010).

Luego durante 4 a 10 días se da la fase de parasitemia donde los taquizoitos en estado libre o contenidos en linfocitos macrófagos o neutrófilos viajan a diferentes tejidos por vía hemátogena o linfática (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Los taquizoitos al multiplicarse formando pequeños focos de necrosis, con células inflamatorias a su alrededor, principalmente mononucleares (Dubey y Lappin, 2000). Estos focos de necrosis tisulares son producidos durante la fase aguda o reproducción rápida, en esta etapa los niveles de parasitemia son altos, lo que puede llevar a la muerte del hospedero (Rojas, 2003).

La multiplicación de taquizoitos disminuye de forma progresiva durante la segunda semana post infección, llegando incluso a detenerse (Dubey, 2010). Además los quistes tisulares formados permanecen latentes por el resto de la vida del hospedero. Sin embargo, de producirse una depresión del sistema inmune puede producirse la proliferación activa del parásito y llevar a que la enfermedad local se reactive y se disemine (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Durante la gestación, los taquizoitos se multiplican en los cotiledones sin llegar a formar quistes y produciendo pequeños focos de necrosis. Cuando *T. gondii* logra atravesar la barrera placentaria, el efecto que la infección puede tener sobre el feto van a depender de la madurez de su sistema inmune y su capacidad de respuesta ante la infección, por lo que la edad fetal que posea cuando se produzca la infección es importante (Dubey, 2010).

### **2.3.10 Signos Clínicos y Lesiones**

#### *Conejos*

Los primeros signos de la infección aguda incluyen letargia súbita con una disminución en el apetito y fiebre (alrededor de 41°C); además, los conejos se niegan a beber agua y se deshidratan. Pueden presentar descargas seropurulentas en ojos y nariz, desarrollan temblor muscular y movimientos de la cabeza, y a los pocos días de la infección pueden desarrollar tetraplegia. Durante la fase terminal de la enfermedad el conejo sufre de convulsiones y ataques de apariencia epiléptica seguidas por la muerte del animal. En la forma crónica los quistes pueden romperse luego de un periodo de estrés o inmunosupresión liberando los bradizoitos que comienzan a multiplicarse e invadir las células circundantes, lo que lleva al daño tisular. Los conejos que sufren esta forma de la enfermedad se vuelven anoréxicos, pierden peso y adquieren un aspecto demacrado. La enfermedad es progresiva y conduce a una pérdida de coordinación de los movimientos (ataxia) y parálisis de las extremidades posteriores. La acumulación de líquido (edema) y los focos necróticos se observan en diferentes órganos. A la necropsia se observa gliosis así como encefalitis granulomatosa con manguitos perivasculares o meningitis no supurativa (Van Praag, 2014). En un estudio en Alemania, se observaron lesiones granulomatosas y necrotizantes en bazo, hígado, pulmones y linfonódulos por toxoplasmosis generalizada (Weiss y Kim, 2014).

### 2.3.11 Respuesta inmune

Estudios *in vivo* han encontrado que el parásito se dirige de manera preferencial a los macrófagos y células dendríticas para la infección y usan estas células como transporte facilitando su diseminación, lo que finalmente lleva al establecimiento de una infección latente en el sistema nervioso central y en el músculo esquelético (Butcher *et al.*, 2014).

Durante la infección, la inmunidad mediada por células es la mayor respuesta protectora activada por el parásito (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003) mientras que la respuesta humoral confiere sólo una protección parcial.

Durante la infección, los anticuerpos IgM pueden aparecer antes y disminuir más rápidamente que los anticuerpos IgG y con frecuencia son la primera clase de anticuerpos detectados después de la infección primaria. Además, pueden persistir durante meses o años luego de la infección, y solo los resultados negativos en la gran mayoría de los casos excluyen la infección aguda (Calderaro *et al.*, 2008).

Después de la ingestión, el parásito invade los enterocitos en el intestino delgado y pueden penetrar la barrera epitelial polarizada por invasión activa sin causar un daño extenso al epitelio. Las células NK y NKT, los linfocitos epiteliales, intraepiteliales y los enterocitos contribuyen a la respuesta inmune innata inicial al parásito después de la exposición a la mucosa. Durante la toxoplasmosis, los eventos que conducen al control de la infección están dominados por la producción de células accesorias de IL-12 que promueve la capacidad de las células NK y T para producir IFN- $\gamma$  el cual conduce a la inducción de muchos mecanismos efectores que inhiben el crecimiento y la supervivencia de los patógenos intracelulares como *T. gondii* (Mordue y Hunter, 2014).

El interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), las interleuquinas 2 y 12 (IL-2 e IL-12) y el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), intervienen en la respuesta inmune que se da contra *T. gondii* (Butcher *et al.*, 2014). La IL-10 parece modular la síntesis de IL-12 e IFN- $\gamma$  *in vivo*, evitando una respuesta inmune excesiva que podría provocar una inflamación extensiva y daño en los tejidos de los hospederos (Neyer *et al.*, 1997).

El interferón- $\gamma$  y el TNF- $\alpha$  actúan sinérgicamente y estimulan la emisión de ON (Óxido Nítrico), el cual inhibe cadena respiratoria mitocondrial afectando el crecimiento del parásito al inhibir la cadena respiratoria mitocondrial (Butcher *et al.*, 2014).

### 2.3.12 Diagnóstico

#### *Diagnóstico clínico*

En la mayoría de especies, la infección por toxoplasmosis se da de manera subclínica o se asemeja a otras enfermedades, por lo que es difícil realizar el diagnóstico clínico. Los signos en caso de toxoplasmosis consisten en anorexia fiebre, taquipnea, y ocasionalmente diarrea. En animales en periodo de gestación normalmente no se observan signos clínicos, aunque puede haber muerte del embrión o feto, e incluso aborto. Algunas crías llegan a nacer pero son débiles,

poseen malformaciones o mueren a las pocas horas dependiendo de la etapa de de gestación en la que el animal se infecta (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

Las lesiones en caso de toxoplasmosis consisten en focos de necrosis debido a la multiplicación del parásito en la placenta, estas lesiones se observan como puntos blanquecinos de 1 a 2mm de diámetro (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). En el feto se puede presentar autólisis o momificación (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

#### *Prueba de aglutinación en látex*

Esta prueba detecta anticuerpos IgG. Debe realizarse con suero previamente tratado con 2-mercaptoetanol, el cual elimina macroglobulinas inespecíficas como la IgM (Dubey, 1995). En caso de que la reacción sea negativa se observa formación un botón de sedimentación en forma de velo cuya forma puede variar (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

#### *Prueba de Sabin y Feldman o Dye test (RSF)*

En esta prueba, se incuban el complemento con los taquizoitos vivos, azul de metileno a 37°C y el suero de prueba durante 1 hora. En casos positivos los anticuerpos anti *T. gondii* lisan la membrana del parásito por lo que no se colorean, mientras que en los casos negativos la membrana intacta se tiñe por lo que se puede ver en el microscopio (Cordero del Campillo *et al.*, 1999). Esta técnica presenta el inconveniente de la exigencia que se requiere para trabajar con parásitos vivos además del costo del suero humano que se necesita para realizarla (Ovalle *et al.*, 2000).

#### *Inmunofluorescencia indirecta*

La prueba de IFI presenta resultados similares a los de Sabin-Feldman, sin embargo no requiere manipular parásitos vivos ni criar ratones por lo que reemplaza fácilmente a esta técnica (Ovalle *et al.*, 2000).

El antígeno usado en esta prueba son los taquizoitos de *T. gondii* previamente formalizados y fijados en portaobjetos de inmunofluorescencia para luego enfrentar diluciones crecientes del suero problema. Los anticuerpos del suero problema se conjugan con unas sustancias añadidas llamadas fluorocromos (Isocinato de Fluoresceína) y son expuestos a luz ultravioleta, por lo que emiten un haz de luz de mayor longitud de onda el cual es visible mediante un microscopio de fluorescencia para así poder visualizar los anticuerpos específicos del suero problema. (Venturini *et al.*, 2001).

#### *Hemaglutinación indirecta (HAI)*

Detecta IgG y utiliza glóbulos rojos tratados con gutaraldehído como soporte del antígeno. Esta técnica se basa en la capacidad que tienen los anticuerpos anti-*T. gondii* de aglutinarse cuando interactúan con glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito. En casos en los que se presentan anticuerpos heterófilos así como anticuerpos IgM, los cuales son característicos en casos de infección aguda, se utiliza 2-mercaptoetanol (2-ME), el cual provocará que el patrón de aglutinación caiga varios títulos,

indicando la presencia de los anticuerpos característicos de la etapa aguda de la infección ayudando a diferenciar el diagnóstico de infecciones agudas y crónicas (Wiener Lab, 2000).

#### *Técnica de aglutinación modificada (MAT)*

Esta técnica se utiliza para la detección de IgG (Dubey *et al.*, 1995). Permite diferenciar las infecciones agudas y crónicas tanto en humanos como en gatos, ya que mediante la mezcla de acetona y formalina permite la detección de trofozoitos. La acetona mezclada con anticuerpos hace que estos se eleven en casos de infección aguda (menos de 3 meses) y la formalina mezclada con anticuerpos permite la detección de infecciones crónicas (Dubey y Lappin, 2000).

#### *Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA)*

Esta prueba permite diferenciar IgM, IgG, IgA e IgE. Esta prueba se basa en el uso de una enzima la cual se une de manera estable a una antiglobulina del individuo investigado en lugar de sustancias fluorescentes (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

En caso de toxoplasmosis congénita las técnicas de ELISA pueden demostrar anticuerpos circulantes de IgG e IgM mediante el empleo de técnicas de ELISA de doble sándwich (DS-ELISA-IgM) y ELISA-Inversa, las cuales no causan falsos positivos debido al “efecto del factor reumatoideo”, ni falsos negativos por exceso de IgG materna, lo que permite que se puedan detectar aproximadamente el 75% de las infecciones congénitas causadas por *T. gondii* (Atías y Thiermann, 1994).

La técnica del doble sándwich permite la detección de IgA contra el antígeno de superficie P30 de *Toxoplasma gondii* debido a que puede tener una mayor sensibilidad que la IgM-ELISA para diagnosticar toxoplasmosis aguda y congénita (Acha y Szyfres, 2003).

#### *Reacción en cadena de polimerasa (PCR)*

Esta técnica es rápida y sensible ya que permite la detección del parásito en menos de 24 horas al amplificar ADN de *Toxoplasma gondii*. El fundamento de ésta prueba se basa en amplificar ciertos genes o fragmentos de estos; específicamente, el gen B1 o una fracción del gen P30. Estudios muestran que la Reacción en cadena de polimerasa (PCR) permite detectar 0.1pg de ADN de *T. gondii*. (Innes y Esteban-Redondo, 1997).

### **2.3.13 Tratamiento**

La base del tratamiento yace en la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, como el uso combinado de sulfadiazina y primetamina; sin embargo, posee un efecto teratogénico por lo que el uso combinado de estos fármacos está contraindicado durante el periodo de gestación (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En casos de toxoplasmosis aguda se usa principalmente clindamicina tanto en perros como en gatos por su buena absorción intestinal. Además logra atravesar la barrera hematoencefálica, lo que favorece el tratamiento de la encefalitis (Dubey y Lappin, 2000).

El tratamiento es eficaz solo durante la fase aguda cuando el parásito está en su forma proliferativa. Los bradizoitos no se ven afectados por el tratamiento debido a que los quistes los protegen y aíslan de la circulación sanguínea. El tratamiento en conejos es similar al administrado en gatos e incluye sulfadoxina+trimetropim a 30-40mg/kg c/12h VO; pirimetamina a 0.25-0.50mg/kg c/12h VO por 2 semanas y ácido fólico a 3-5mg una vez al día dos veces a la semana. Este tratamiento puede causar supresión de la médula ósea. Por lo tanto, es recomendable realizar análisis de sangre regularmente si el tratamiento se extiende más allá de 2 semanas (Van Praag, 2014).

El tratamiento con Clindamicina nunca debe ser usado debido a que causa una severa disbiosis de la flora intestinal bacteriana y la consiguiente muerte del conejo. El porcentaje de supervivencia es bajo debido al desarrollo súbito y rápido de la parasitosis (Van Praag, 2014).

En el hombre varios medicamentos están disponibles para el tratamiento de la toxoplasmosis. La elección típica de los medicamentos incluye pirimetamina en combinación con sulfonamida. El ácido folínico generalmente se agrega para prevenir la supresión de la médula ósea por la pirimetamina. En casos de pacientes que no toleran las sulfonamidas, la clindamicina es una opción alternativa. La autovacuna es una alternativa en pacientes incapaces de tolerar sulfonamidas o clindamicina. La espiromicina se recomienda para el tratamiento en mujeres porque logra una alta concentración en la placenta, aunque no tiene buena penetración del SNC. El tratamiento profiláctico en casos de enfermedad crónica está indicado solo en pacientes de alto riesgo, porque ninguno de los medicamentos disponibles mata de manera efectiva a los quistes en los humanos (Halonen y Weiss, 2014).

#### **2.3.14 Prevención y control**

La prevención y control es la mejor medida para impedir la toxoplasmosis, y teniendo en cuenta el carácter cosmopolita de esta zoonosis, las medidas de prevención deben enfocarse especialmente en el humano, principalmente en personas inmunodeprimidas y gestantes; y mediante estas medidas proteger también a los animales:

##### *En el hospedero definitivo*

- No alimentar a los animales con carne cruda o poco cocida (Rojas, 2003).
- Limpiar diariamente las cajas de aseo de los felinos, de preferencia con lejía en una parte cada 4 de agua, ya que los ooquistes demoran 24 hrs en esporular y hacerse infectivos tras exponerse al medioambiente en condiciones favorables (Rojas, 2003)



- La esterilización y la adecuada alimentación en gatos promueve hábitos sedentarios además de la disminución de la conducta de caza, medio principal por el que se infectan (Rojas, 2003)

#### *En el hospedero intermediario*

En el conejo:

- Impedir que los felinos domésticos o salvajes ingresen a las zonas donde se almacena alimento, así como eliminar insectos como cucarachas o moscas que puedan servir como vectores del parásito (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- Si el conejo mascota convive con felinos se deben lavar las toallas y camas de las mascotas regularmente, así como prestar atención a anomalías nerviosas en el conejo (Van Praag, 2014).
- Realizar un adecuado control en la población de roedores (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).

En el humano:

- Informar y establecer programas de educación acerca de las distintas fuentes de contagio de *T.gondii*, además de la correcta cocción de la carne, el consumo de leche pasteurizada y derivados lácteos, el tratamiento del agua, lavado de frutas y las precauciones que se toman en caso de tener un gato (Acha y Szyfres, 2003).
- En el caso de las mujeres, antes de la gestación se debe realizar la prueba para el diagnóstico de toxoplasmosis y durante esta se deben tomar todas las medidas de precaución (Acha y Szyfres, 2003).
- Orientar a las personas en las medidas de protección adecuadas durante actividades que requieran la manipulación de plantas, remover tierra y el lavado de manos posterior a la manipulación de carne cruda (Cordero del Campillo *et al.*, 1999).
- Se debe controlar el desarrollo psicomotriz de los niños cuyas madres presenten alteraciones en los títulos de anticuerpos durante la gestación (Rojas, 1990).

#### *En el medio ambiente:*

- Lavar con ácido acético diluido las verduras y frutas posiblemente contaminadas para eliminar los ooquistes que puedan tener (Rojas, 2003).
- Controlar la población de cucarachas, moscas y cualquier animal que puede cumplir el rol de vector (Rojas, 2003).
- Colocar las heces del gato en bolsas plásticas antes de colocarlas en la basura para evitar que los ooquistes se diseminen por medio del agua o por vectores vivos como los escarabajos, lombrices y moscas.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Lugar y tiempo**

El presente estudio se realizó en el Consultorio de Animales Silvestres y Exóticos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el distrito de San Borja, Lima, Perú; durante el periodo de Enero - Junio del 2018.

#### **3.2 Animales en estudio**

Se tomaron muestras de sangre de los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) con un peso de 1kg a más; sin distinción por sexo, raza ni estado de salud. El criterio de inclusión de peso se basa en que se pudo extraer la muestra de sangre requerida para el análisis sin que afectara el estado de salud del animal. Además, los conejos alcanzan este peso aproximadamente a los 3-4 meses, por lo que ya consumen alimento sólido y pueden infectarse mediante esta vía.

Se utilizaron los conejos que llegaron al Consultorio de Animales Silvestres y Exóticos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. A cada propietario se le explicó el proyecto en desarrollo y luego de que éste aceptó voluntariamente que su mascota sea incluida, se le solicitó firmar un formato de consentimiento previo informado, autorizando la colecta de sangre de su conejo.

Con estos datos, se procedió a elegir de manera aleatoria a los conejos que cumplan con los criterios de inclusión previamente descritos.

La cantidad de animales muestreados fueron todos aquellos conejos que cumplían con los criterios de inclusión mencionados anteriormente (1kg a más; sin distinción de sexo, raza ni estado de salud) durante el periodo de enero-junio del 2018, muestreándose un total de 89 conejos.

### 3.3 Toma de muestra

Se aplicó sedación para así poder realizar un mejor manejo del conejo y coleccionar la muestra de sangre causándole el mínimo estrés posible. Se usó Acepromazina vía oral a una dosis de 0.25mg/kg (Carpenter, 2013).

La toma de la muestra se hizo mediante punción de la vena safena lateral o de la vena yugular. Siguiendo las recomendaciones para venopunción descritas por Brown (2015), para la toma de muestra mediante punción de la vena safena lateral la extracción fue suave ya que esta vena es susceptible a colapsar, es por esto que se usó una jeringa de 1ml. Una vez tomada la muestra se presionó firmemente la zona, ya que es común la formación de hematomas. Para la toma de muestra mediante punción de la vena safena lateral la sujeción se hizo con el conejo en decúbito lateral o esternal con un solo miembro posterior sobre el borde de la mesa. Luego se extendió la pata para que la vena se alce justo proximal a la articulación de la rodilla (la vena cursa diagonalmente a través de la tibia). En conejos de menos de 2.5kg se tomó la muestra mediante punción de la vena yugular debido a la facilidad con la que la vena safena puede colapsar a la punción. La sujeción se hizo con el conejo sostenido sobre el borde de la mesa con la cabeza extendida hacia arriba y los antebrazos sostenidos sobre el borde de la mesa. La vena se encontró en el surco yugular y se elevó en la entrada torácica. Se evitó la sobre extensión del cuello ya que esto tiende a aplanar la vena.

En este estudio se colectó 1ml de sangre, siendo este volumen de muestra suficiente para realizar el estudio, debido a que el hematocrito del conejo es de 30-50% (Laboratory Animals, 1993), por lo que el suero fue del 50-70% restante de la muestra, teniendo entre 500-700ul de suero con el que se realizó la prueba por conejo.

Las muestras obtenidas fueron analizadas en el Laboratorio de Anatomía Animal y Fauna Silvestre, Sección Fauna Silvestre de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, para ser analizadas.



**Fig 1** Vena safena lateral del conejo. Graham y Mader, 2012



**Fig 2** Punción de la vena yugular

### **3.4 Análisis serológico**

En este estudio se empleó la técnica de Hemaglutinación Indirecta (HAI) para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*, esta técnica tiene una sensibilidad de 97.5% y una especificidad de 90% en el diagnóstico de *Toxoplasma gondii* (Ozkuyumcu, 1988). Se elaboraron diluciones del suero de la muestra de 1:2 a 1:1024; de los cuales se consideraron como positivos aquellos títulos mayores o iguales a 1:64 (Dubey, 2010). Además se utilizó 2-Mercaptoetanol para identificar si la infección era aguda mediante la presencia de anticuerpos IgM en aquellos individuos seropositivos en los cuales la presencia de aglutinación disminuyó en dos títulos como mínimo, lo que significaría que los anticuerpos característicos de la infección aguda están presentes (Calderaro *et al.*, 2008). Esta prueba se basa en la aglutinación que se produce cuando los anticuerpos contra *T. gondii* están en contacto con los glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito (Wiener Lab, 2000).

### **3.5 Procesamiento de muestras**

#### **Titulación sin 2-Mercaptoetanol:**

Primero se procedió a colocar 25ul de dilutor de sueros HAI en cada uno de los pocillos de la policubeta a usar (hasta la dilución 1:1024). Luego de esto se colocaron 25ul de cada suero problema y control a ensayar en los pocillos de la primera fila y se efectuaron las diluciones desde ésta fila (dilución 1:2) homogenizando el primer pocillo de la columna y cargando 25ul de la mezcla para colocarlos en el siguiente pocillo de la columna, repitiéndose

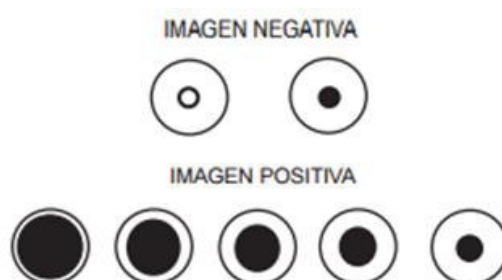
este proceso hasta la dilución 1:1024 y descartándose 25ul de este pocillo. Se colocó 25ul de glóbulos rojos no sensibilizados para controlar la heterofilia en las filas 1 y 2 (diluciones de 1:2 y 1:4) y en los demás pocillos se agregaron 25ul del antígeno HAI, luego sacudió la policubeta suavemente durante 30 segundos y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se tomaron como positivas aquellas muestras que formen un manto que cubra el 50% o más del fondo del pocillo según lo indicado en el kit comercial Toxotest-HAI (WIENER LAB, 2000) en valores  $\geq 1:64$  (punto de corte) (Dubey, 2010).

### Titulación con 2-Mercaptoetanol

Primero se colocó una gota de suero con micropipetas descartables (una por cada suero) en cada uno de los pocillos de la primera fila de la policubeta. Luego se agregó una gota de 2-Mercaptoetanol al 1% a los pocillos usados, se sellaron los pocillos con cinta adhesiva y se agitó la policubeta suavemente realizando pequeños golpes con los dedos en las paredes laterales y poseteriormente se incubó durante 90 minutos a temperatura ambiente, luego se retiró la cinta adhesiva y con un microgotero se colocaron 25ul del diluyente de suero HAI en los pocillos restantes de las hileras utilizadas. Después se realizó la dilución de la fila 1 (dilución 1:2), pasando el microdilutor a la fila 2 (dilución 1:4) y así sucesivamente hasta la dilución 1:1024

Una vez realizadas las diluciones, se procedió a colocar 25ul de glóbulos rojos no sensibilizados en las filas 1 y 2 (diluciones 1:2 y 1:4) para el control de heterofilia. En el resto de los pocillos se agregaron 25ul de Antígeno HAI. Luego se agitó la policubeta golpeando con los dedos en las paredes laterales, durante aproximadamente 30 segundos y se dejó en reposo por 90 minutos para realizar la lectura.

Si el suero del individuo tratado con 2-ME disminuyó en por los menos dos diluciones en comparación con el mismo suero sin tratar con 2-ME, significa que presentaba infección aguda. Se tomaron como positivas las muestras que formaron un manto que cubra el 50% o más del fondo del pocillo según lo indicado en el kit comercial Toxotest-HAI (WIENER LAB, 2000) en valores  $\geq 1:64$  (punto de corte) (Dubey, 2010).



**Fig 3.** Imagen de referencia para resultados positivos y negativos. Wiener Lab

### 3.6 Recolección de datos y encuesta epidemiológica

A cada dueño de los conejos del estudio que llegaron al Consultorio de Animales Silvestres y Exóticos se le entrevistó para recopilar información sobre los posibles factores asociados a la infección con *T. gondii*, clasificando éstos datos en edad (juvenil: <1 año, adulto: 1-5 años y geronte: >5 años), sexo, tipo de alimento (pellet, fresco o ambos) y presencia de gatos (Anexo 1). Estos factores fueron elegidos debido a que diversos estudios como los realizados por Miller *et al.* (2002), Cordero del Campillo *et al.* (1999) y Figueroa *et al.* (2006) indicaron una posible asociación entre la infección con *T. gondii* y la presencia de éstos factores.

Factores como área geográfica y estacionalidad no fueron evaluados durante el estudio debido a que todos los conejos pertenecen a la misma región con condiciones climáticas similares y al ser criados como mascotas no se ven afectados por los cambios de pastura que ocurren durante los diferentes cambios estacionales.

### 3.7 Análisis estadístico

Para estimar la frecuencia de anticuerpos anti-*T. gondii* se realizó una tabla organizada por sexo, edad, tipo de alimentación y presencia de gatos en casa; mientras que con la información obtenida en las encuestas se realizó la prueba estadística de Chi cuadrado para encontrar asociación significativa entre los posibles factores de riesgo (sexo, edad, tipo de alimentación y presencia de gatos en casa) y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*.

$$p = \frac{\text{N}^\circ \text{animales positivos a la prueba}}{\text{N}^\circ \text{Animales Muestreados}}$$

$$\text{Intervalo de confianza:} \quad \text{IC} = p \pm z (0,95) \frac{\sqrt{p(1-p)}}{n}$$

n: tamaño muestra

Z: nivel de confianza (valor tabular 1,96) con 95% de confianza

p: frecuencia

$$\text{Chi Cuadrado:} \quad \chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}$$

f<sub>o</sub>= frecuencias observadas

f<sub>e</sub>= frecuencias esperadas

### **3.8 Consideraciones éticas**

Los animales en el estudio no sufrieron mayor dolor o estrés que el requerido durante la práctica clínica rutinaria para coleccionar una muestra de sangre. Asimismo, se extrajo sólo el volumen de sangre suficiente para realizar el análisis y todo el procedimiento fue realizado por personal capacitado. Se respetaron los Principios Directrices Internacionales para la investigación biomédica que implica el uso de animales propuestas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS), Ginebra, 1985 y señaladas por el Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM para el uso de animales en la docencia e investigación. Este estudio fue autorizado por el Comité de Ética y Bienestar Animal (CEBA) con el número de autorización CEBA-2018-005. Se le explicó a cada propietario sobre el estudio y luego de que estos aceptaron voluntariamente que su mascota sea incluida, se les solicitó firmar un formato de consentimiento previo informado, autorizando la colecta de sangre de su conejo.

#### IV. RESULTADOS

Durante el periodo que duró el estudio se muestrearon 89 conejos de los cuales 6 resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*. Respecto a los factores asociados a evaluarse, se encontró que la cantidad de animales machos muestreados fue ligeramente mayor al de las hembras. Los animales que vivían en un lugar con presencia de gatos fueron muestreados en cantidades similares a los que vivían en hogares sin la presencia de éstos. Además los animales muestreados fueron en su mayoría adultos (1-5 años) seguidos de los juveniles (<1 año), y los gerontes fueron los menos frecuentes (>5 años). Asimismo la gran mayoría de animales muestreados se alimentaban con una mezcla de alimento fresco y pellets y pocos individuos se alimentaban con solo alimento fresco o pellets

La frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en conejos mascota atendidos en el consultorio, obtenida usando la técnica de hemaglutinación indirecta (HAI), fue de 6,74% (IC 95% 3.13-13.941). Los más altos porcentajes de positivos se encontraron en los individuos gerontes y los que consumen alimento fresco, teniendo ambos un porcentaje de 33.33% (Cuadro 1). Además, al evaluar los posibles factores asociados (sexo, edad, tipo de alimento y presencia de gatos) mediante la prueba de Chi cuadrado, se observa que las variables edad y tipo de alimento presentaron asociación significativa ( $p < 0.05$ ) mientras que las variables sexo y presencia de gatos no presentaron asociación significativa ( $p > 0.05$ ) (Cuadro 1).

De todos los animales muestreados se encontró que de los 6 conejos (*Oryctolagus cuniculus*) que resultaron positivos a la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*, un individuo macho, geronte, que consume alimento fresco con pellets y sin contacto con gatos presentó una reducción en al menos dos títulos luego del procesamiento de la muestra con 2-Mercaptoetanol, resultando en la presencia de anticuerpos IgM en el individuo (Cuadro 2).



Cuadro 1. Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* y asociación de los posibles factores de riesgo para su presentación en conejos mascota atendidos en el Consultorio de Animales Silvestres y Exóticos FMV-UNMSM, durante el periodo Enero-Junio 2018.

Variables	n°positivos/n°muestreados	% (IC95%)	Chi cuadrado	p
<b>Sexo</b>			0.028	0.8673
Macho	4/49	8.16 (3.22-19.19)		
Hembra	2/40	5 (1.38-16.50)		
<b>Edad</b>			7.831	0.0199
Juvenil (<1 año)	1/39	2.56 (0.45-13.18)		
Adulto (1-5años)	3/44	6.82 (2.35-18.23)		
Geronte (>5años)	2/6	33.33 (9.68-70)		
<b>Tipo de Alimento</b>			7.433	0.0243
Fresco	2/6	33.33 (9.68-70)		
Pellet	0/5	-		
Fresco/Pellet	4/78	5.13 (2.01-12.46)		
<b>Presencia de Gatos</b>			0.155	0.6934
Si	4/45	8.89 (3.51-20.73)		
No	2/44	4.55 (1.26-15.13)		
<b>Total</b>	<b>6/89</b>	<b>6.74 (3.13-13.94)</b>		

Cuadro 2. Títulos de anticuerpos sin 2-Me y con 2ME de cada animal positivo para identificar la presencia de anticuerpos IgM

<b>Animales positivos</b>	<b>Títulos de anticuerpos sin 2-ME</b>	<b>Títulos de anticuerpos con 2-ME</b>	<b>Sexo</b>	<b>Presencia de gatos</b>	<b>Edad</b>	<b>Tipo de Alimento</b>
<b>Positivo 1</b>	1:256	1:256	Hembra	No	Juvenil	Fresco
<b>Positivo 2</b>	1:1024	1:1024	Hembra	Si	Adulto	Fresco
<b>Positivo 3</b>	1:512	1:512	Macho	Si	Adulto	P/F*
<b>Positivo 4</b>	1:1024	1:1024	Macho	Si	Adulto	P/F*
<b>Positivo 5</b>	1:1024	1:256	Macho	No	Geronte	P/F*
<b>Positivo 6</b>	1:512	1:512	Macho	Si	Geronte	P/F*
*Pellet/Fresco						

## V. DISCUSIÓN

*Toxoplasma gondii* es uno de los parásitos zoonóticos más comunes, extendiéndose por todo el mundo y afectando tanto animales como humanos (Dubey, 2010). Todos los animales de sangre caliente se ven afectados (Cordero del Campillo y Rojo, 2001), incluidos los conejos (*Oryctolagus cuniculus*) cumpliendo el papel de hospedador intermediario y pudiendo desarrollar la enfermedad en su fase aguda donde la mayor parte de los conejos infectados mueren entre el segundo y octavo día post infección (Cordero de Campillo y Rojo, 2001).

De acuerdo a los resultados del presente estudio, la frecuencia de anticuerpos contra *T. gondii* en conejos mascota (*Oryctolagus cuniculus*) fue de 6.74%, siendo este resultado similar al 4.5% encontrado por Meng *et al.* (2015) en China, 8% encontrado en Chile por Stutzin *et al.*, (1989) y 6.7% y 9.25% encontrado por De Lima *et al.* (2016) al noreste de Brasil, difiriendo de lo encontrado en México, donde se reportaron seroprevalencias de *T. gondii* en conejos de granja de traspatio de 18.7 y 39.7% (Figueroa *et al.*, 2006).

La diferencia entre las seroprevalencias observadas probablemente se deba a factores como la presencia del hospedero definitivo. Así, el estudio de Figueroa *et al.* (2006) fue realizado en tres tipos de granjas con diferentes medidas de seguridad, donde se observó la presencia de gatos en los almacenes de comida y las habitaciones de los conejos. Además de factores medioambientales, donde los conejos pueden infectarse debido a la contaminación del agua y comida con ooquistes diseminados por el viento lluvia o por alimento almacenado (Frenkel *et al.*, 1970; citado por Figueroa *et al.*, 2006). También se postula que el material de descanso (aserrín, paja, heno o alfalfa) puede estar contaminado con ooquistes, infectando así a los conejos (Figueroa *et al.*, 2006). Los conejos mascota al vivir enjaulados o sueltos dentro de la casa no presentan algunos factores de riesgo anteriormente mencionados (agua, alimento y tipo de material de descanso expuesto a la contaminación con ooquistes de *T. gondii*) (Varga, 2013).

En el presente estudio no se observó asociación entre la seropositividad y el sexo del animal, lo cual difiere con lo que se reporta en animales de vida libre donde el sexo si es un factor asociado con una mayor seroprevalencia de anticuerpos *T. gondii*, donde normalmente los machos presentan una mayor seroprevalencia que las hembras debido a que estos presentan una mayor variación en el tamaño del rango de su hogar y los movimientos estacionales, por lo que

es más probable que viajen largas distancias para establecer y defender su territorio (Miller, 2002). Este riesgo no se aplicaría en conejos mascota debido a que el macho ve reducido su territorio marcando y defecando confinados en una casa (Varga, 2013), por lo que no presentan diferencia en su rango de hogar con las hembras y el sexo no sería un factor asociado a la infección con *T. gondii*.

En relación a la edad, se observó asociación entre esta y la seropositividad, sugiriendo que la edad puede ser un factor asociado a la presentación de anticuerpos contra *T. gondii*. Esto puede deberse a que en humanos y animales terrestres, la infección por *T. gondii* es probable que se prolongue por toda la vida como resultado de la formación de quistes en los tejidos. Además, asumiendo que el riesgo temporal de exposición a *T. gondii* permanezca relativamente constante, entonces la probabilidad de infectarse y presentar seropositividad aumenta cuanto más tiempo vive el animal (Miller, 2002). Sin embargo, se debe tener en cuenta que debido al reducido número de gerontes, la asociación entre la variable edad y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* podría no ser del todo concluyente.

Se observó asociación entre la seropositividad y el tipo de alimento. Según la literatura, la fuente de infección más importante para los hospederos intermediarios, especialmente en herbívoros son las pasturas contaminadas con ooquistes (Cordero del Campillo *et al*, 1999) presentes en el alimento fresco (el cual se encuentra en dos de las tres subcategorías de alimento). Si bien se detectó asociación entre el tipo de alimento y la seropositividad, es posible que este resultado se haya visto afectado por la poca representatividad obtenida para conejos alimentados únicamente con alimento tipo pellet o fresco. Así, se observa que 78/89 conejos evaluados consumían ambos tipos de alimento, mientras que solo algunos eran alimentados exclusivamente con pellet o vegetales frescos, por lo que la asociación entre el tipo de alimento y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* podría no ser del todo concluyente.

Según lo observado en el estudio no se evidenció asociación entre la seropositividad y la presencia de gatos. Esto puede deberse a que los gatos que mantenían contacto con los conejos eran en su mayoría gatos caseros y que no suelen tener acceso a la cacería de animales infectados o fetos nacidos muertos; como lo demostraron Lopes y colaboradores quienes encontraron una seroprevalencia de gatos “indoor” (caseros) de 7.7 % y en “outdoor” (callejeros) una prevalencia de 45.4 % (Lopes *et al* 2008, citado por Troncoso *et al.*, 2015).

De todos los conejos solo un individuo presentó anticuerpos IgM contra *Toxoplasma gondii*. La presencia de estos anticuerpos es indicador de infección aguda ya que son la primera clase de anticuerpos en aparecer después de la infección primaria (Calderaro *et al*, 2008). Se observó que solo un individuo presentó anticuerpos IgM contra *T. gondii* representando un 16.7% del total de conejos positivos, siendo éste conejo un macho, geronte que consume pellets y alimento fresco y sin contacto con gatos. Por lo que la fuente más probable de infección pudo ser por el consumo de alimento fresco, ya que es la principal fuente de infección en hospederos intermediarios herbívoros (Cordero del Campillo *et al*, 1999). Es probable que solo se haya encontrado un individuo con infección aguda debido a que la mayoría de conejos que presentan la infección aguda mueren debido a que la enfermedad se desarrolla de forma súbita y rápida (Van Praag, 2014) por lo que su detección no es muy común.

De acuerdo a los datos presentados, se concluye que la baja frecuencia de animales seropositivos contra *T. gondii* (6.74%) obtenida podría deberse al tipo de cuidado que se tienen con los conejos mascota, donde éstos no suelen tener contacto con gatos callejeros, ni reciben agua o alimento almacenado al aire libre (reduciendo así el riesgo de estar contaminado con ooquistes). Sin embargo, el hallar pocos individuos seropositivos es una limitante, por lo que las asociaciones halladas podrían no representar la realidad.

## VI. CONCLUSIONES

La frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en conejos fue baja (6.74%).

El tipo de alimento fue identificado como un factor asociado a la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en conejos mascota que fueron atendidos en el Consultorio de animales exóticos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

La edad del animal fue identificada como un factor asociado a la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en conejos mascota que fueron atendidos en el Consultorio de animales exóticos de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

El número reducido de conejos seropositivos así como la poca cantidad de animales presentes en algunas categorías dentro de los posibles factores de riesgo estudiados son limitantes para establecer una asociación entre estos factores y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en conejos mascota.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Acha, P., Szyfres B. 2003.** Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 3ª ed. p 88-96. Vol. III. Parasitosis. Publicación Científica y Técnica N°580. OPS.
2. **Atías A, Thiermann E. 1994.** Parasitología clínica. 3ª ed.. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. Santiago de Chile. p 269-282
3. **Beverley J. 1959.** Congenital transmission of toxoplasmosis through successive generations of mice. Nature 183: 1348-1349.
4. **Brown S. 2015.** Taking Blood Samples from Rabbits. [Internet], [11 setiembre 2016]. Disponible en: [http://www.idexx.co.uk/pdf/en\\_gb/smallanimal/diagnosticnews/UK\\_DN\\_Rabbit\\_Blood\\_Sampling\\_Guide.pdf](http://www.idexx.co.uk/pdf/en_gb/smallanimal/diagnosticnews/UK_DN_Rabbit_Blood_Sampling_Guide.pdf)
5. **Butcher B, Reese M, Boothroyd J, Denkers E. 2014.** Interactions between *Toxoplasma* effectors and host immune responses. En: Weiss L, Kami K. *Toxoplasma gondii* :The model apicomplexan- Perspectives and methods 2da ed. USA: Elsevier. P 505-519.
6. **Calderaro A, Piccolo G, Peruzzi S, Gorrini C, Chezzi C, Dettori G. 2008.** Evaluation of *Toxoplasma gondii* Immunoglobulin G (IgG) and IgM assays incorporating the new vidia analyzer system. Clinic Vaccine Immunol. 15(7): 1076-1079.
7. **Carpenter J. 2013.** Exotic Animal Formulary. 4<sup>ed</sup>, Missouri: Elsevier, 478p.
8. **Cerro L, Chávez A, Casas E, Suárez F, Rubio A, 2009.** Frecuencia de *Toxoplasma gondii* en gatos de Lima Metropolitana y concordancia entre las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y hemaglutinación indirecta. Rev inv vet Perú v.20 n2.
9. **Cordero del Campillo M, Rojo Vásquez F, Martínez Fernández AR, Sánchez Acedo MC, Hernandez Rodriguez S, Navarrete López-Cozar I, Diez Baños P. 1999.** Parasitología veterinaria. España: Edit. Mac Graw Hill. 998 p.

10. **Cordero del Campillo M, Rojo A. 2001.** Parasitología veterinaria. 1<sup>era</sup> ed, Madrid: McGraw-Hill. 987p.
11. **De Lima D, Santos S, da Silva L, de Melo R, da Silva J, Junior J, Mota R. 2016.** Occurrence of *Toxoplasma gondii* in domestic rabbits of Northeastern Brazil. Acta Parasitol 61(3) 500-507.
12. **Dubey J. 1995.** Toxoplasmosis. JAVMA. 273: 35-40.
13. **Dubey J, Rollor E, Smith K, Kwok O, Thulliez P. 1997.** Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. J Parasitol 83: 839-841.
14. **Dubey J. 1998.** Reexamination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites to pepsin digestion. Parasitol 116:43-50.
15. **Dubey J, Lindsay D, Speer CA. 1998.** Structures of *Toxoplasma gondii*, tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev 11(2): 267-299.
16. **Dubey J, Lindsay D, Lappin M. 2009.** Toxoplasmosis and other intestinal coccidial infections in cats and dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract.Rev 39(6):1009-34
17. **Dubey J, Lappin M. 2000.** Toxoplasmosis y neosporosis. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2da. ed. Green C.México. Mc Graw-Hill Interamericana. p 493-553.
18. **Dubey J. 2004.** Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Vet Parasitol 126: 57-72.
19. **Dubey J. 2009.** History of the Discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. International Journal for Parasitology 39: 877-882
20. **Dubey J. 2010.** Toxoplasmosis of animals and humans. 2a ed. Maryland: CRC Press. 336 p
21. **Dumêtre A, Dubey J, Ferguson D, Bongrand P, Nadine A, Puech Ph. 2013.** Mechanics of the *Toxoplasma gondii* oocyst wall. Proc Natl Acad Sci USA. 110(28): 11535-11540.
22. **Feldman H, Miller L. 1956.** Serological study of toxoplasmosis prevalence. Am J Hygiene 64: 320-335.
23. **Figueroa C, Duarte R, Juárez A, Luna P, Correa D. 2006.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from Mexico. Pubmed [Internet], [11 setiembre 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16729701>
24. **Flores A. 1991.** La Toxoplasmosis: consideraciones económicas, técnicas y sanitarias. Nuestra Cabaña 226: 4-8.
25. **Fox R. 1974.** Taxonomy and genetics. In: Weisbroth, S.H., Flatt, R.E., Kraus, A.L. (Eds.), The Biology of the Laboratory Rabbit. Academic Press, pp. 1–22.



26. **Frenkel J, Dubey J, Miller N. 1970.** *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science 167: 893–896.
27. **García Vasquéz Z, Rosario Cruz R, Solargo-Salgrado M. 1990.** Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in three states of México. Prev. Vet Med. 10: 25-29.
28. **Gilot E, Lélou M, Dardé M, Richomme C, Aubert D, Afonso E, Mercier A, Gotteland C, Villena I. 2012.** The life cycle of *Toxoplasma gondii* in natural environment. Intech open pp 3-36
29. **Graham J, Mader D. 2012.** Basic Approach to Veterinary Care. En: Quesenberry K, Carpenter J. Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery 3ra ed. USA: Elsevier p 174–182.
30. **Halonen S, Weiss L. 2014.** Toxoplasmosis. Rev Clin Neurolol 114: 125-145.
31. **Innes E, Esteban-Redondo M. 1997.** Diagnóstico. En: Tratado de Patología y Producción Ovina. Cap 3. L.Ortega (ed). Ed. Luzan. Madrid.
32. **Knoll L, Tomita T, Weiss L. 2014.** Bradyzoite Development. En: Weiss L, Kami K. *Toxoplasma gondii* :The model apicomplexan- Perspectives and methods 2da ed. USA: Elsevier. P 521-549.
33. **Laboratory Animals. 1993.** Extracción de Sangre en los mamíferos y aves de laboratorio. [Internet], 11 setiembre 2016]. Disponible en <http://sea.umh.es/files/2011/07/Refinamiento-extracci%C3%B3n-sangre.pdf>
34. **Langoni H, Silva A, Cabral K, Cunha E, Cutolo A. 2001.** Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 38 (5): 243-244.
35. **Leguía G, Samamé H, Guerrero C, Rojas M, Nuñez A. 1987.** Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas. Rev Cienc Vet 3: 19-21.
36. **Leguía G, Samamé H, Guerrero C, Rojas M, Nuñez A. 1998.** Prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en alpacas. Rev. Camel. Sudam. UNMSM-IVITA-CICCS 6: 19-21.
37. **Leguía G, Casas E. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Lima: Editorial de Mar. 190 p.
38. **Lopes A, Cardoso L, Rodrigues M. 2008** Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. Vet Parasitol.; 155(3-4):184-9.
39. **Luzón M, Alonso A, Quintanilla-Gonzalo A. 1997.** Toxoplasmosis Neosporosis. Aula Veterinaria Ovis. Tratado de patología y reproducción ovina. (52): 11-17.
40. **Maning P, Ringler D, Newcomer C. 1994.** The biology of the laboratory rabbit. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Academic Press.

41. **Martín-Hernández I.; García-Izquierdo S. 2003.** Toxoplasmosis en el hombre. *Bioquímica*. 28 (3): 19-27.
42. **McLeod R, Van Tubbergen C, Montoya J, Petersen E. 2014.** Human toxoplasma infection. En : Weiss L, Kami K. *Toxoplasma gondii* : The model apicomplexan- Perspectives and methods 2da ed. USA: Elsevier. P 99-159.
43. **Meng Q, Wang W, Ni X, Li H, Yao G, Sun X, Wang W, Cong W. 2015.** Seroprevalence of *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in China. Pubmed [Internet]. [11 setiembre 2016]. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4725227/>
44. **Meireles L. 2001.** Estudo das Fontes de Infecção da Toxoplasmose Humana em Diferentes localidades do Estado de São Paulo. Tesis de Mestre em Ciências, São Paulo: Univ. de São Paulo. 171p.
45. **Miller M, Kreuder C, Gardnerb I, Paradies D, Jessup D, Worcester K, Dodd E, Harris M, Ames J, Packham A, Conrad P. 2002.** Coastal freshwater runoff is a risk factor for *Toxoplasma gondii* infection of southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *Int J Parasitol* 32: 997–1006.
46. **Miller M, Miller W, Melli A, Conrad P, James E, Leutenegger C, Dabritz H, Packham A, Paradies D, Harris M, Ames J, Jessup D, Worcester K, Grigg M. 2008.** Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, run off and toxoplasmosis of sea otters. *Int J Parasitol* 38: 1319–1328.
47. **Mordue D, Hunter C. 2014.** Innate immunity to *Toxoplasma gondii*. En: Weiss L, Kami K. *Toxoplasma gondii*: The model apicomplexan- Perspectives and methods 2da ed. USA: Elsevier. P 797-817
48. **Munday B. 1972.** Serological evidence of *Toxoplasma* infection in isolated groups of sheep. *Res Vet Sci* 13: 100-102.
49. **Nelson E, Keller G, Mitchell T., Pennypacker B, Rebbeck P, Rogers I. 2010.** A jugular bleeding technique in rabbits. *Lab Animal*, 39(1), 17–22.
50. **Neyer L, Grunig G, Fort M, Remington J, Rennick D, Hunter CA. 1997.** Role of Interleukin-10 in Regulation of T-Cell-Dependent and T-Cell- Independent Mechanisms of Resistance to *T. gondii*. *Infect. Immun.* 65(5):1675-1682.
51. **Nowak RM. 1999.** Order Lagomorpha. In: Walker's Mammals of the World, vol. II, sixth ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 1715–1738.
52. **Ovalle F, García A, Thibauth A. 2000.** Frecuencia de anticuerpos anti- *Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. *Bol chil Parasitol* 55(3-4): 94-99.
53. **Owen D. 1992.** Parasites of Laboratory Animals. Laboratory Animal Handbooks No 12. Royal Society of Medicine Services Ltd.

54. **Ozkuyumcu C, Durupinar B, Giriskan E. 1988.** Comparison of the IFA, ELISA IgG, ELISA IgM, IHA and the direct agglutination tests in *Toxoplasma gondii* in serology. Microbiol Bol. 22(4): 271-275
55. **Pizzi H. 1997.** Toxoplasmosis Rhone Poulenc Roner. Buenos aires: 84 p
56. **Quiroz H. 1990.** Parasitología. 1<sup>ra</sup> ed. México D.F: Limusa. 876p.
57. **Remington J, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G, 2001.** Toxoplasmosis In: Infectious diseases of the foetus and newborn infant. Fifth ed, Philadelphia:W B Saunders. 205-346.
58. **Richardson V. 2000.** Rabbit husbandry and nutrition. UK. Vet. 5: 1–3.
59. **Rojas M. 1990.**Parasitismo de los Rumiantes domésticos. Terapia Prevención y Modelos para su aprendizaje. Lima. Ed. Majjosa. 383 p.
60. **Rojas M. 2003.** Nosoparasitosis de perros y gatos peruanos. Lima: Martegraf. 383 p.
61. **Smith, J. 1991.** Foodborne Toxoplasmosis. Journal of Food Safety. 12: 17-57.
62. **Smith D, Frenkel J. 1995.** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. J Wildl Dis. 31 (1): 15-21.
63. **Soulsby E. 1987.** Parasitología y enfermedades Parasitarias. México DF: Interamericana. 823p.
64. **Stutzin M, Contreras M, Schenone H. 1989.** Epidemiology of toxoplasmosis in Chile. V. Prevalence of the infection in humans and domestic and wild animals, studied by indirect hemagglutination reaction, in the Juan Fernández Archipiélago. V Region. Pubmed [Internet], [11 setiembre 2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2629770>
65. **Tenter A, Heckeroth A, Weiss L. 2000.** *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. Int J Parasitol 30(12-13): 1217-1258.
66. **Troncoso T, Uribe P, Arrué K, Valenzuela A, Fischer C.2015.** Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en gatos (*Felis catus*, Linnaeus 1758) residentes en San Carlos, Chile. Rev Med Vet;(29):23-31.
67. **Van Praag E. 2014.** Toxoplasmosis, an unrecognized parasitosis in rabbits. [Internet], [05 octubre 2016]. Disponible en: [http://www.medirabbit.com/EN/Neurology/Toxoplasma/Toxo\\_rab\\_en.pdf](http://www.medirabbit.com/EN/Neurology/Toxoplasma/Toxo_rab_en.pdf)
68. **Varga M. 2013.**Textbook of rabbit medicine 2nd edition Oxford:Edit Butterworth-Heinemann. 512p.
69. **Venturini M, di Lorenzo C, Pennimpee E. 2001.** Introducción al inmunodiagnóstico. Buenos aires: Universidad Nacional de la Plata. 57 p.

- 70. Wallace G.1969.** Serologic and epidemiologic observations on toxoplasmosis on three Pacific Atolls. Am J Epidemiol 90: 103-111.
- 71. Webster J. 1994.** Prevalence and transmission of *Toxoplasma gondii* in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. J Parasitology 108: 407-11.
- 72. Weiss L, Kim K. 2014.** *Toxoplasma gondii*. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Elsevier Ltd. 1085p.
- 73. Wiener Lab. 2000.** Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI), para la detección de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii*. [Internet], [29 noviembre 2012]. Disponible en: [http://www.wiener-lab.com.ar/wiener/catalogo/archivos/6395\\_toxotest\\_hai\\_sp.pdf](http://www.wiener-lab.com.ar/wiener/catalogo/archivos/6395_toxotest_hai_sp.pdf)
- 74. Yan C, Liang L, Zheng K, Zhu X. 2016.** Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. Parasit Vectors 9: 137.

## VIII. ANEXOS

**ANEXO 1.** Modelo de encuesta realizada a los propietarios de conejos mascota:

### **“Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en conejos mascotas”**

**NOMBRE:** \_\_\_\_\_ **CÓDIGO DE MUESTRA:** \_\_\_\_\_

**PROPIETARIO:** \_\_\_\_\_ **DIRECCIÓN:** \_\_\_\_\_

**TELÉFONO:** \_\_\_\_\_ **CORREO:** \_\_\_\_\_

#### **ENTREVISTA**

**1.- Edad:** \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_ meses

**2.- Sexo:** ( ) Macho ( ) Hembra

**3.- Raza:** ( ) Nueva Zelanda ( ) Mariposa

Otro: \_\_\_\_\_

**4.- Origen del alimento:** ( ) Pellet ( ) Fresco ( ) Ambos

**5.- Forma de alimentación** ( ) En el suelo ( ) Suspendido

**6.- Presencia de gatos** ( ) SÍ ( ) NO

**7.- Convive con otros conejos** ( ) SI ( ) NO .....

**8.- Sale al Parque** ( ) SÍ ( ) NO

**9.- Ha observado la presencia de roedores en su casa:**

( ) SÍ ( ) NO

**10.- Se ha cruzado:** ( ) SÍ ( ) NO

**11.- Tiene patio:** ( ) SÍ ( ) NO

**12. Tipo de domicilio:**( ) Departamento ( ) Vivienda Común